Aus dem Hygienischen Institut der Universität
zu Münster i.W.
Direktor: Professor Dr. K. W. Jötten

Über die Uhlenhuth'sche Präcipitinreaktion an Menschen- und Tierzähnen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der zahnärztlichen Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

vorgelegt von

Wilhelm Lohbeck
appr. Zahnarzt
aus Essen-Ruhr

1935

Druck: Heinrich Buschmann, Münster i.W., Drubbel 17-18

Dekan und Referent: Prof. Dr. K. W. Jötten

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

„Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen Fakultät
der Westfälischen Wilhelms-Universität zu Münster i. W."

Über die Uhlenhuth'sche Präcipitinreaktion an Menschen- und Tierzähnen.

A. Theoretische Erörterung:

Die biologische Eiweißdifferenzierung mittels der Präcipitation nach Uhlenhuth stellt die Artspezifität des Eiweißes von Tieren und Menschen fest. Es sind mit dieser Methode fast sämtliche Organe und Sekrete des menschlichen und tierischen Organismus untersucht worden. Nur über die artspezifischen Reaktionen an Zähnen herrscht Uneinigkeit. Der Mitarbeiter Uhlenhuths, Beumer, hat auf Grund von Versuchen die biologische Eiweißdifferenzierung an Zähnen für unausführbar erklärt. Wenn man bedenkt, daß der Stickstoffgehalt der Zähne sehr bedeutend ist, etwa 2—3 %, der Eiweißgehalt danach berechnet etwa 15—18 % beträgt, so erscheint es angebracht, die Ergebnisse Beumers in Frage zu stellen. Plathner in Halle kommt in seiner Arbeit „Ueber die Durchführbarkeit der Uhlenhuth'schen Präcipitin-Reaktionen an frischen und alten Menschen- und Tierzähnen" zu folgendem Ergebnis:

„Bei genügender Zerkleinerung ergaben sowohl frische Menschen- wie frische Tierzähne verschiedenster Gattungen mit geeignetem Antiserum binnen 24 Stunden eine artspezifische positive Reaktion.

Eine Ausnahme bilden die intakten Molaren und Weisheitszähne vom Menschen, die ihrem geringen Eiweißgehalt entsprechend erst noch später biologisch erfaßbar sind."

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Nachprüfung der Plathner'schen Ergebnisse an frischen Menschen- und Tierzähnen. Das Untersuchungsmaterial wurde erweitert auf Kaninchen- und Katzenzähne.

B. Praktischer Teil:

1. Versuchsanordnung.

Das wesentliche bei den Versuchen ist die möglichst feinste Zermahlung der Zähne, damit die Ausbeute an Eiweiß groß ist. Die Pulpa wurde nach Aufmeißelung der Zähne entfernt und das Kavum mit anschließenden Wurzelkanälen sorgfältig mit Bürste und Exkavator gereinigt. Die Außenfläche der Zähne

wurde mit Sandpapier bearbeitet. Die Zähne, die nun von Periost und Weichteilen befreit waren, wurden luftgetrocknet und dann im Eisenmörser zerkleinert. Die gut zerstampfte Masse schlug ich durch ein feines Kupfersieb (Siebgröße 2600 Maschen pro qcm) und füllte sie dann in sterile Gläser. Zu einer Versuchsserie wurden 4 mal 1 Gramm Zahnmehl abgewogen und mit je 1,5 ccm steriler physiologischer NaCl-Lösung aufgefüllt. Die Lösungen wurden geschüttelt, evtl. im Schüttelapparat. Im allgemeinen ist der Schüttelapparat nicht so sehr zu empfehlen, da das feuchte Zahnmehl an den Wänden des Reagenzglases haftet und dadurch für die Eiweißausbeute verloren geht. Die Extraktionszeiten der 4 Versuche einer Zahngruppe (= 1 Versuchsserie) waren 1 Stunde, 24, 48 und 72 Stunden. Nachdem die Extraktion beendet war, zentrifugierte ich die gut durchschüttelte Lösung im Spitzröhrchen etwa 20 Minuten. Die klare Lösung wurde noch durch Filtrierpapierfilter gegossen. Dieser Zahnmehlextrakt muß völlig klar sein, damit bei der Präcipitinreaktion keine Trübungen vorhanden sind, die einen positiven Ausfall vortäuschen. Ich stellte für die Präcipitinreaktion geeignete Röhrchen her. Als Material dienten mir Glasröhren, die einen inneren Durchmesser von 4 mm hatten und 8 cm lang waren. Am zugeschmolzenen Ende des Röhrchens wurde der Durchmesser noch kleiner als 4 mm, was besonders günstig war, um Serum einzusparen. Mit einer Pipette füllte ich etwa 0,5 ccm Zahnmehlextrakt in diese kleinen Röhrchen ein. Das artspezifische Serum zog ich mittels einer sterilen Haarkapillare aus der Ampulle hoch. Dieses Serum wurde dem Zahnmehlextrakt hinzugefügt; und zwar so, daß es langsam an der Wand des Röhrchens entlanglief. Da das Serum spezifisch schwerer ist als die Zahnmehllösung, sinkt es sofort zu Boden. Deutlich war die Abgrenzung der beiden Flüssigkeiten zu erkennen. Bei positiver Reaktion bildete sich ein feiner Nebelring an der Berührungsstelle der beiden Flüssigkeiten. Der Nebelring war umso stärker, je länger der Versuch stand. Bei starker Reaktion bildeten sich am nächsten Tage sogar Ausflockungen, die zu Boden sanken.

2. Material.

Das Material an Menschenzähnen wurde bereitwilligst von Prof. Dr. Müller, Direktor der Universitätszahnklinik Münster i. W., zur Verfügung gestellt. Die Zähne stammten von verschiedenen Menschen. Es handelte sich um kariöse und intakte Frontzähne und kariöse und intakte Molaren. Die Kaninchenzähne erhielt ich aus dem Tierbestand des Hygienischen Instituts und die Katzenzähne aus dem Pharmakologischen Institut. Das weitere Tierzahnmaterial besorgte ich vom Schlachthof und verschiedenen Metzgereien. Das präcipitierende Antiserum lieferte das Reichsgesundheitsamt Berlin-Dahlem. Es er-

schien zweckmäßig das Serum vor dem Gebrauche zu zentrifugieren, damit es eine vollständig klare Lösung darstellte. Ferner war es nötig, das Serum auf eigene Ausflockungen zu prüfen, indem statt des Zahnmehlextraktes NaCl-Lösung genommen wurde. Nur wenn keine Trübung auftrat, verwandte ich das Serum. Die Artspezifität des Serums prüfte ich an Fleischextrakten der in Betracht kommenden Tiere.

3. Erklärung der Tabellenzeichen.

++++ = Ausfall sofort stark
+++ = Ausfall nach 1 Minute
++ = Ausfall nach 2 Minuten
+ = Ausfall nach 3 Minuten
(+) = Ausfall nach 4 Minuten
$\frac{+}{-}$ = Ausfall nach mehr als 4 Minuten
− = Ausfall negativ
? = Ausfall fraglich

4. Ergebnisse.

a) Menschenzähne: Nach der oben beschriebenen Weise wurden je 10 Versuchsserien für die einzelnen Zahnsorten ausgeführt. Eine Versuchsserie umfaßt 4 Versuche: nach 1 Stunde, 24, 48 und 72 Stunden. Es wurden 10 Versuchsserien angestellt, um den Zufall auszuschließen und die praktische Verwertbarkeit der Präcipitinreaktion an den Zähnen zu prüfen.

Aus der nun folgenden Tabelle über intakte Frontzähne geht hervor, daß die Ergebnisse für die einzelnen Extraktionszeiten zu 70—80 % die gleichen sind.

Intakte Frontzähne. Tabelle I.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	−	(+)	(+)	+
2	„	„	−	+	(+)	(+)
3	„	„	−	(+)	(+)	(+)
4	„	„	$\frac{+}{-}$	(+)	(+)	(+)
5	„	„	?	(+)	(+)	(+)
6	„	„	−	$\frac{+}{-}$	(+)	(+)
7	„	„	−	(+)	(+)	(+)
8	„	„	−	(+)	(+)	−
9	„	„	−	$\frac{+}{-}$	(+)	$\frac{+}{-}$
10	„	„	−	(+)	(+)	?

Bei den kariösen Frontzähnen sind die Ergebnisse noch eindeutiger. Es mag daran liegen, daß der Eiweißgehalt der kariösen Zähne höher ist. Ferner ist daran zu denken, daß die Karies die Eiweißverbindungen des Zahnes frei macht, sodaß das Eiweiß leichter in Lösung geht. (Siehe Tabelle 2.)

Ebenso wie die intakten Frontzähne zeigen die Versuche an intakten Molaren, daß die positiven Reaktionen erst sehr spät auftreten. Die kariösen Molaren zeigen weitaus die stärkste positive Reaktion der menschlichen Zähne. Die Ergebnisse sind in Parallele zu bringen mit denen der kariösen Frontzähne.

Kariöse Frontzähne. Tabelle II.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	±	(+)	+	+
2	„	„	±	(+)	+	+
3	„	„	?	(+)	(+)	+
4	„	„	±	(+)	+	+
5	„	„	±	(+)	+	+
6	„	„	±	(+)	+	+
7	„	„	±	(+)	+	+
8	„	„	±	(+)	+	+
9	„	„	—	(+)	+	+
10	„	„	±	(+)	+	+

Intakte Molaren. Tabelle III.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	—	—	(+)	(+)
2	„	„	—	—	±	(+)
3	„	„	—	?	(+)	(+)
4	„	„	—	?	(+)	(+)
5	„	„	—	—	(+)	(+)
6	„	„	—	—	±	(+)
7	„	„	—	—	(+)	(+)
8	„	„	—	—	(+)	(+)
9	„	„	—	?	±	(+)
10	„	„	—	—	(+)	(+)

Kariöse Molaren. Tabelle IV.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	+	+	++	+++
2	„	„	+	+	+++	+++
3	„	„	+	+	++	+++
4	„	„	+	+	+	+++
5	„	„	+	+	++	+++
6	„	„	+	+	++	+++
7	„	„	(+)	+	+++	+++
8	„	„	+	+	++	+++
9	„	„	+	+	++	+++
10	„	„	(+)	+	++	+++

Die Versuche an Menschenzähnen haben ergeben, daß es durchaus möglich ist, die Uhlenhuth'sche Präcipitinreaktion durchzuführen.

Aus den einzelnen Ergebnissen der 10 Versuchsserien wurde ein Gesamtergebnis abgeleitet in Form einer Uebersichtstabelle:

Frische Menschenzähne. Tabelle V.

Extrakt aus:	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Intakten Frontz.	1,0	1,5	—	(+)	(+)	(+)
Kariösen Frontz.	1,0	1,5	±	(+)	+	+
Intakten Molaren	1,0	1,5	—	—	(+)	(+)
Kariösen Molaren	1,0	1,5	+	+	++	+++

b) Tierzähne: Die Versuchsanordnung bei den Tierzähnen war genau so wie bei den Menschenzähnen. Wie oben erwähnt, wurde das Material aus verschiedenen Metzgereien bezogen, sodaß bei der Anstellung von 10 Versuchsserien das Zahnmehl von 10 verschiedenen Tieren stammte. (Schwein,

Rind, Hammel). Bei den Pferdezähnen war es nicht möglich, die Zähne von mehr als 2 verschiedenen Pferden zu beziehen. Die Katzenzähne stammten von 5 Katzen, die Kaninchenzähne von 10 Kaninchen.

Von allen Tierversuchen trat die Reaktion mit Schweinezähnen am schnellsten und besten auf. Schon nach 1 Stunde Extraktionszeit waren sämtliche 10 Ergebnisse positiv. Die Präcipitinreaktion wurde bei Extrakten von 24, 48 und 72 Stunden immer stärker positiv.

Schweinezähne. Tabelle VI.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	+	+++	++	+++
2	„	„	+	+++	+++	++++
3	„	„	+	++	++++	++++
4	„	„	+	+++	+++	++++
5	„	„	+	+++	+++	++++
6	„	„	+	++++	+++	++++
7	„	„	+	++	+++	++++
8	„	„	+	+++	+++	++++
9	„	„	+	+++	+++	++++
10	„	„	+	+++	+++	++++

Rinder- und Hammelzähne zeigen auffallende Analogien in der Reaktionsweise. Dieses Ergebnis ist interessant, da Uhlenhuth bei Verwandtschaftsreaktionen mittels präcipitierender Sera eine Verwandtschaft zwischen Hammel, Ziege und Rind feststellt. Hierzu ist noch zu bemerken, daß bei den angestellten Kontrollversuchen, die mit 24stündigem Rinderextrakt und verschiedenen artfremden Seren angestellt wurden, folgende Ergebnisse zeigten: Hinzufügung von Menschen-, Schweine- und Pferdeserum zu Rinderzahnextrakt ergab keine Präcipitation; während ein Versuch mit Hammelserum nach 3 Stunden an der Berührungsfläche der beiden Flüssigkeiten eine Trübung zeigte. Bei den Kontrollversuchen mit 24stündigem Hammelzahnextrakt und Rinderserum ergaben sich nur mit der Lupe nachweisbare Trübungen. Uhlenhuth hat die Verwandtschaftsreaktionen mit dem Blut der verschiedenen Tierarten und den entsprechenden Antiseren ausgeführt. Es wäre interessant, diese Verwandtschaftsreaktionen mit Zähnen und

den entsprechenden Antiseren systematisch zu untersuchen. (Siehe Tabellen 7 und 8). Bei Kaninchen- und Katzenzähnen konnten nur drei Versuchsserien angesetzt werden, da das Material nicht ausreichte. Bei Pferdezähnen reichte das Material nur für zwei Versuchsserien. Ich fasse die Ergebnisse von Kaninchen-, Katzen- und Pferdezähnen in einer Gesamttabelle zusammen.

Rinderzähne. Tabelle VII.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	—	±	±	(+)
2	„	„	—	±	±	(+)
3	„	„	—	±	±	(+)
4	„	„	?	(+)	±	±
5	„	„	?	±	±	(+)
6	„	„	—	±	±	(+)
7	„	„	—	±	±	±
8	„	„	—	(+)	±	(+)
9	„	„	—	±	±	(+)
10	„	„	—	±	±	(+)

Hammelzähne. Tabelle VIII.

Versuch-Nr.	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitation angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
1	1,0	1,5	—	±	(+)	(+)
2	„	„	—	±	(+)	(+)
3	„	„	—	±	(+)	(+)
4	„	„	—	(+)	(+)	(+)
5	„	„	?	±	±	(+)
6	„	„	—	±	±	(+)
7	„	„	—	±	±	(+)
8	„	„	?	±	(+)	(+)
9	„	„	—	(+)	(+)	(+)
10	„	„	—	±	(+)	(+)

Kaninchen-, Katzen- und Pferdezähne. Tabelle IX.

Extrakt aus:	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Kanin.-zähnen	1,0	1,5	+++	+++	+++	+++
Katzen-zähnen	"	"	+++	+++	+++	+++
Pferde-zähnen	"	"	+	+	(+)	(+)

C. Zusammenfassung.

Gesamtübersicht. Tabelle X.

Extrakt aus:	Mehlmenge g	Phys. NaCl-Lösung ccm	Präcipitinreaktion angestellt nach: 1 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Intakten Frontz.	1,0	1,5	–	(+)	(+)	(+)
Kariösen Frontz.	"	"	±	(+)	+	+
Intakten Molaren	"	"	–	–	(+)	(+)
Kariösen Molaren	"	"	+	+	++	+++
Schweine-zähnen	"	"	+	+++	+++	++++
Rinder-zähnen	"	"	–	±	±	(+)
Hammel-zähnen	"	"	–	±	(+)	(+)
Kanin.-zähnen	"	"	+++	+++	+++	+++
Katzen-zähnen	"	"	+++	+++	+++	+++
Pferde-zähnen	"	"	–	±	(+)	(+)

1. Alle frischen Menschen- und Tierzähne ergaben nach höchstens 24 Stunden Extraktionszeit eine positive Präcipitinreaktion, nur die intakten Molaren zeigten erst nach 48 Stunden einen positiven Ausfall.

2. Die kariösen Menschenzähne reagieren schon nach 1 Stunde, während die intakten Zähne erst nach 24 bezw. 48 Stunden einen positiven Ausfall zeigten.

3. Die Tierzähne reagierten im Vergleich zu den Menschenzähnen besser auf die entsprechenden Antiseren. Unter den Tierzähnen reagierten am besten Schweine-, Kaninchen- und Katzenzähne.

Es ist mir noch ein besonderes Bedürfnis, dem Direktor des Hygienischen Institutes, Herrn Prof. Dr. K. W. Jötten und seinem Mitarbeiter Herrn Privatdozent Dr. med. habil. Reploh für ihre freundliche Unterstützung und Anregung zu danken.

Literarturverzeichnis.

Beumer, Die Untersuchung der Menschen- und Tierknochen auf biologischem Wege. Zschr. f. Med. Beamte 1902, Nr. 23.

Dold, Präcipitine und die Methoden der Präcipitation. Abderhaldens Handb. d. Biol. Arbeitsmethoden. Abt. XIII, Teil 2, Heft 1.

Fürth, Ueber die Methodik der biol. Eiweißdifferenzierung. Archiv f. Hyg. 1924, Bd. 92, S. 158, Verlag von R. Oldenbourg, München und Berlin.

Hammarsten, Zitiert nach A. Kantorowicz, Handwörterbuch der gesamten Zahnheilkunde 1929, S. 414. Verlag Springer, Berlin.

Plathner, Ueber die Durchführbarkeit der Uhlenhuth'schen Präcipitinreaktion an frischen und alten Menschen- und Tierzähnen, Inaugural-Dissertation, Halle 1934.

Uhlenhuth und Steffenhagen, Die biol. Eiweißdifferenzierung mittels der Präcipitation unter besonderer Berücksichtigung der Technik, Handb. d. pathogenen Organismen, 3. Aufl. 1930, 3. Bd., S. 365. Verlag Fischer, Jena.

Lebenslauf.

Am 13. März 1906 wurde ich als Sohn des Holzhändlers Oskar Lohbeck und seiner Ehefrau Grete, geb. Wolters, in Duisburg geboren. Von 1912—1919 besuchte ich das Städt. Realgymnasium zu Duisburg, von 1919—1923 das Knabeninstitut in Wilhelmsdorf in Württemberg. Von 1923 bis Ostern 1927 war ich im Holzfach tätig, besuchte dann 2 Jahre die Oberrealschule in Grünberg/Oberhessen und bestand Ostern 1929 die Reifeprüfung. Von 1929—1931 studierte ich 4 Semester Zahnheilkunde in Bonn. Von 1933—1935 besuchte ich die Universität in Münster und bestand dort die zahnärztliche Staatsprüfung Ende Juni 1935. Anschließend beschäftigte ich mich mit der Anfertigung der Doktor-Arbeit.